昆虫肽聚糖识别蛋白研究进展

陈康康，吕志强*

（西北农林科技大学植物保护学院昆虫学系，陕西杨凌 712100）

摘要：在脊椎动物和非脊椎动物中，识别非己是天生免疫反应中的第一步。肽聚糖是细菌细胞壁的必需成分，属于进化上保守的微生物表面病原相关分子模式（pathogen-associated molecular pattern, PAMP），可以被模式识别蛋白（pattern recognition proteins, PRRs）如肽聚糖识别蛋白（peptidoglycan recognition proteins, PGRPs）识别。在昆虫的天生免疫系统中，有些 PGRPs 能够利用细菌独有的肽聚糖识别入侵细菌，并将细菌入侵信号传递给下游的抗菌肽（antimicrobial peptide, AMP）合成途径，启动抗菌肽基因的转录及合成；PGRPs 对肽聚糖的识别也会启动酚氧化酶原途径的激活，引起黑化反应。有些具有酰胺酶活性的 PGRPs 可以促进吞噬作用；有些可以抑制抗菌肽合成以减弱过度免疫反应带来的损伤。还有一些 PGRPs 作为效应因子直接作用于细菌将细菌杀死。本文主要从昆虫 PGRPs 作为识别受体（recognition receptor）、调节子（regulator）和效应因子（effector）3 个方面进行了综述，并分析了目前 PGRPs 研究中仍不清楚的问题和未来研究的方向。

关键词：昆虫；天生免疫；肽聚糖；病原相关分子模式；肽聚糖识别蛋白

中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2014)08-0969-10

Peptidoglycan recognition proteins (PGRPs) in insects

CHEN Kang-Kang, LÜ Zhi-Qiang* (Department of Entomology, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Peptidoglycan recognition proteins (PGRPs), a family of pattern recognition proteins, play key roles in the innate immune system against invading pathogens and parasites in vertebrates and invertebrates. Peptidoglycans (PGNs), which are conserved in most bacteria as an essential component of cell wall, are recognized by PGRPs as pathogen-associated molecular pattern (PAMP). In insects, some PGRPs function as receptors to recognize bacteria and fungi, leading to the activation of antimicrobial peptide (AMP) synthesis through IMD and Toll pathways. And this recognition also results in the activation of prophenoloxidase (PPO) cascade. Some PGRPs with amidase activity are involved in phagocytosis, and some may down-regulate AMP pathways by degradation of bacterial peptidoglycan. And some PGRPs function as effectors to kill bacteria by themselves. This review summarizes the functions of PGRPs as recognition receptor, regulator and effector in insect innate immune system and gives the directions for future study.

Key words: Insects; innate immunity; peptidoglycan; pathogen-associated molecular pattern (PAMP); peptidoglycan recognition protein (PGRP)

天生免疫（innate immunity）是脊椎动物和无脊椎动物抵御感染的第一道防线（Hoffmann and Reichhart, 2002; Akira *et al.*, 2006）。昆虫作为一个古老的动物家族，大约于 350 ~ 400 百万年前已经出现在地球上，至今占据超过地球 70% 的动物总物种数（Mayhew, 2007）。在物竞天择、适者生存的进化过程中，昆虫已经形成了从入侵病原物的识别到采取不同策略降低对机体损害的天生免疫防御体系——细胞免疫反应和体液免疫反应，两者共同作用抵御入侵的细菌、真菌、病毒以及寄生生物，来保护自身不受或减弱病原微生物带来的伤害（Yu *et al.*, 2002; Hultmark, 2003）。细胞免疫由血细胞（hemocytes）介导完成，主要包括吞噬作用（phagocytosis）、集结作用（nodulation）和包囊作用（encapsulation）；由脂肪体和血淋巴中游离的蛋白介导的体液免疫主要以抗菌肽（antimicrobial

基金项目：国家重大基础研究发展规划（“973”计划）项目（2012CB114604）
作者简介：陈康康，男，1987 年 11 月生，河南开封人，博士研究生，主要从事昆虫免疫学研究，E-mail: chenkang1106@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhiqiang.lu@nwsuaf.edu.cn
收稿日期 Received: 2014-03-28; 接受日期 Accepted: 2014-06-17

peptide, AMP)和黑化反应为代表(Glodsmith and Marec, 2009)。

天生免疫系统亦是昆虫抵御病原微生物入侵的防线,昆虫通过模式识别受体(pattern recognition proteins, PRRs)如肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)识别病原生物表面的病原相关分子模式,实现对外来病原体的识别,进而启动天生免疫反应,激活 Toll 途径、IMD(Immune-Deficiency)途径、JAK-STAT 等途径来产生抗菌肽以及细胞免疫等途径清除病原物达到免疫的目的(Janeway and Medzhitov, 2002; Beutler, 2004)。本文通过分析肽聚糖识别蛋白作为识别受体(recognition receptor)、调节子(regulator)和效应因子(effector)行使的功能,对昆虫肽聚糖识别蛋白研究进行了综述,以期明确昆虫肽聚糖识别蛋白在昆虫天生免疫中扮演的角色,并为揭示更复杂的高等动物天生免疫提供线索。

1 病原相关分子模式(PAMP)

病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)由病原微生物产生,为大多数微生物所共有,而并不存在于宿主体内。具代表性的 PAMP 有细菌的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、肽聚糖(peptidoglycan, PGN)、脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)、细菌脂蛋白(bacterial lipoprotein, BLP)、未甲基化的 CpC DNA、酵母菌的甘露聚糖(mannan)等(Medzhitov and Janeway, 1998)。PAMP 能被天生免疫系统的 PRRs 识别,是天生免疫系统准确区分机体非己病原物的基础。对 PAMP 的识别不仅使免疫系统感知到感染的存在,而且为免疫系统提供了与入侵病原物类型相关的信息,进而由机体选择不同的免疫途径清除或减弱危害。虽然 LPS 在脊椎动物和非脊椎动物中是一种强有力的免疫刺激物,但是在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的体液免疫反应中没有免疫刺激活力,与 LPS 相比较,细菌的肽聚糖可以引起果蝇更强的免疫反应(Lemaitre *et al.*, 1997; Kurata, 2014)。

肽聚糖是大多数细菌细胞壁的必需成分,昆虫免疫系统识别的免疫诱导物主要是细菌细胞壁的肽聚糖。肽聚糖(peptidoglycan),又称粘质复合物(mucocomplex)、胞壁质(murein)或粘肽(mucopeptide),它是由双糖单位、四肽尾还有肽桥聚合而成的多层网状大分子结构。乙酰葡萄糖胺(β-1,4-linked N-acetylglucosamine, GlcNAc)和 N-乙酰胞壁酸(N-acetylmuramic acid, MurNAc)通过 β-1,4 糖苷键连接形成糖链,糖链上的 N-乙酰胞壁酸连接四肽尾。革兰氏阳性菌通过甘氨酸五肽的 N 端 α-氨基与四肽尾 C 端 D-Ala 上的羧基连接,C 端羧基与另一个四肽上 L-Lys 的 ε-氨基连接。革兰氏阴性菌无特殊肽桥,故前后两肽尾的 D-Ala 与 m-DAP 直接相连,最终构成稳定的网状结构(图 1)。肽聚糖是许多细菌细胞壁的主要成分,革兰氏阳性细菌(G+)胞壁所含的肽聚糖占干重的 50% ~80%,肽桥长短视细菌种类不同而异;革兰氏阴性细菌(G-)胞壁所含的肽聚糖占干重的 5% ~20%,其双糖单位跟革兰氏阳性菌一样,但是四肽尾的第 3 个不是 L-Lys 而是内消旋二氨基庚二酸,且四肽尾之间的连接方式较革兰氏阳性菌也有所不同(Schleifer and Kandler, 1972)。革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的细胞壁组成不同:在革兰氏阳性菌的细胞壁中肽聚糖在细菌细胞壁的外层,是 Lys 类型(图 1: A);而革兰氏阴性菌最外层不是肽聚糖而是脂多糖,后者由脂质 A、核心多糖和 O 抗原 3 部分组成,但不会激活 IMD 途径,真正激活 IMD 途径的是细胞壁中的 DAP(diaminopimelic acid, DAP)型肽聚糖(图 1: B)(Leulier *et al.*, 2003; Kaneko *et al.*, 2004)。果蝇的天生免疫系统能够通过 PGRPs 区分 Lys 和 DAP 型的肽聚糖,从而启动不同的免疫通路应对入侵的细菌(Ferrandon *et al.*, 2007)。

2 模式识别受体(PRRs)

在天生免疫反应中,寄主对入侵病原微生物的识别是启动免疫系统的基础(Kurata, 2014)。模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs)是天生免疫中具有识别入侵微生物的一类受体,由有限数量的胚系基因编码,进化上保守并在天生免疫的起始阶段扮演重要角色,其与病原生物表面的病原相关分子模式(PAMP)的相互识别和作用是激活天生免疫反应的关键(Kang *et al.*, 1998; Ochiai and Ashida, 1999; Werner *et al.*, 2000)。另外,模式识别蛋白还可以作为调节子调控昆虫的天生免疫系统,甚至作为效应因子直接作用于入侵病原微生物。在昆虫先天免疫系统中,PRRs 主要有:PGRPs、革兰氏阴性菌结合蛋白(Gram-negative binding protein, GNBP)和 β-葡聚糖识别蛋白(β-glucan recognition protein, β-GRP)(Pal and Wu, 2009)。细菌是昆虫

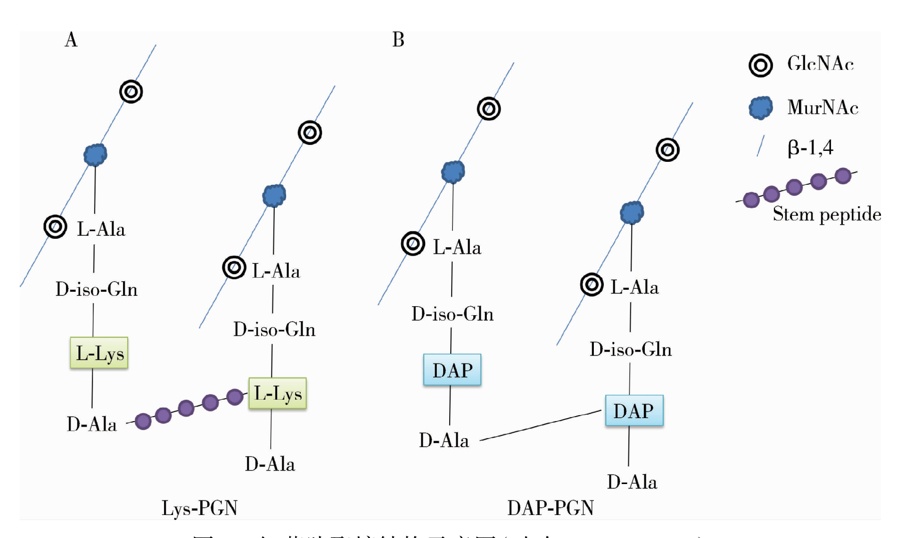


图 1　细菌肽聚糖结构示意图(改自 Kurata, 2014)

Fig. 1　Diagram of peptidoglycan structure (adapted from Kurata, 2014)

DAP：二氨基庚二酸 Diaminopimelic acid. 肽聚糖是由乙酰葡萄糖胺(β-1,4-linked N-acetylglucosamine, GlcNAc)、N-乙酰胞壁酸(N-acetylmuramic acid, MurNAc)与四肽尾聚合而成的多层网状大分子。乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸通过 β-1,4 糖苷键连接形成糖链,糖链通过连接在 N-乙酰胞壁酸的四肽尾交联形成网状结构——肽聚糖。依据四肽尾第 3 个氨基酸的不同和四肽尾的连接方式不同分为 Lys-PGN (A)和 DAP-PGN(B)。Peptidoglycans (PGN) are composed of β-1, 4-linked N-acetylglucosamine (GlcNAc) and N-acetylmuramic acid (MurNAc) cross-linked by tetrapeptide, and are classified into two types: Lys-PGN (A) and DAP-PGN (B), based on the 3rd amino acid of the tetrapeptide and the linkage between the tetrapeptide.

的重要致病微生物,PGRPs 在对入侵细菌的识别和清除起着关键作用,故此本文主要针对 PGRPs 进行综述。

3　肽聚糖识别蛋白(PGRPs)

细菌作为一种重要的病原微生物,天生免疫识别系统中肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)可以利用细菌细胞壁独有的肽聚糖进行识别。作为 PRRs 的重要成员,PGRPs 于 1996 年由 Yoshida 等人在研究家蚕的时候首次发现,随后在人类和小鼠等哺乳动物中也被发现(Yoshida *et al.*, 1996; Kang *et al.*, 1998)。这类蛋白可以结合 PGN,而且有些 PGRPs 还可以裂解 PGN (Guan *et al.*, 2005)。Yoshida 等(1996)在家蚕血淋巴中纯化出来一种专一性识别革兰氏阳性菌细胞壁肽聚糖的蛋白,该蛋白是从昆虫中得到的第一个 PGRP,它存在于家蚕的血淋巴和表皮中,对革兰阳性菌的肽聚糖具有较高结合能力,由于缺失 T7 溶菌酶关键的酶活性位点而不能裂解肽桥中的 N-乙酰胞壁酸和 L-丙氨酸酰胺键,但能够结合藤黄微球菌 *Micrococcus luteus* 肽聚糖并引发丝氨酸蛋白酶级联反应,最终激活酚氧化酶导致黑化反应。在无 Ca^{2+} 存在的条件下,该蛋白能结合 PGN,而不能结合几丁质和 β-1,3-葡聚糖(Fabrick *et al.*, 2003)。Kang 等(1998)发现从昆虫到人类的 PGRPs 存在着高度保守性。目前大约有 100 个 PGRP 家族成员已经被鉴定出来,例如:果蝇中有 13 个 PGRP 基因,冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 有 7 个 PGRP 基因,埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 有 8 个 PGRP 基因,家蚕 *Bombyx mori* 有 12 个 PGRP 基因,人类和小鼠都有 4 个 PGRP 基因(Kang *et al.*, 1998; Werner *et al.*, 2000, 2003 ; Christophides *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2008)。在昆虫、软体动物、棘皮动物和脊椎动物体内均已发现 PGRPs,但在同属于昆虫纲的蚜虫基因组中没有发现编码该类蛋白的基因,这一点与已经测序的昆虫中均已发现 PGRPs 不同(Gerardo *et al.*, 2010)。另外,在植物、秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans*、蚤状溞 *Daphia pulex* 体内也没有发现 PGRPs (Kang *et al.*, 1998; McTaggert *et al.*, 2009; Royet *et al.*, 2011)。

3.1　PGRPs 的结构

PGRPs 在结构上有一个大约 165 个氨基酸构成的 PGN 结合区,叫作 PGRP 结构域,该结构域和 N-乙酰胞壁酸-丙氨酸酰胺酶相似,并且与噬菌体 T7 溶菌酶有大约 30% 的相似性,噬菌体 T7 溶菌酶具有酰胺酶活性,能够裂解 PGN。因此,有些 PGRPs 具有酰胺酶活性并能够裂解 PGN (Cheng *et al.*,

1994；Dziarski and Gupta，2006）。具有酰胺酶活性的 PGRPs 能够打断糖链上 N-乙酰胞壁酸与 L-丙氨酸之间的酰胺键，从而裂解肽聚糖（Mellroth *et al*.，2003；Kim *et al*.，2003；Zaidman-Remy *et al*.，2011）。晶体结构分析发现 PGRP 结构域和 N-乙酰胞壁酸-丙氨酸酰胺酶都具有 3 个外围的 α-螺旋和一个由 5 个 β-折叠股组成的中心的 β-折叠（Kim *et al*.，2003；Guan and Mariuzza，2007；Leone *et al*.，2008）。除 PGRP 结构域外，PGRPs 还有信号肽或者跨膜结构域。例如家蚕 PGRP-L1 除了 PGRP 结构域还有跨膜结构域（Tanaka *et al*.，2008）；果蝇的 PGRP-SA 除 PGRP 结构域之外 N 端带有信号肽（Kurata，2014）。另外，还有些 PGRPs 含有一个保守的 RHIM 样（RIP homotypic interaction motif-like）修饰位点，在哺乳动物中该位点在接头蛋白 RIP1 和 TRIF 与 TLR3 下游 TRIF 依赖的 NF-κB 之间的交互作用是必需的（Sun *et al*.，2002；Meylan *et al*.，2004）。在果蝇 PGRP-LC 和 LE 中含有 RHIM 样保守位点，该位点在 PGRP-LC 和 LE 激活 IMD 途径过程中起着重要作用（Kaneko *et al*.，2006）。PGRPs 上的 PGN 结合凹槽可以结合 PGN，组成 DAP 型 PGN 的最小单位 TCT（tracheal cytotoxin）可以被果蝇中 PGRP-LC 和 PGRP-LE 识别进而激活 IMD 途径（Stenbak *et al*.，2004；Kaneko *et al*.，2006；Yano *et al*.，2008）。

PGRPs 可以按照长度和是否具有酰胺酶活性两种方式分为不同的类型。PGRPs 按照蛋白大小被划分为长型（L）和短型（S）两种形式（Werner *et al*.，2000；Liu *et al*.，2001）。目前在家蚕中发现有 6 个长型 PGRPs 和 6 个短型 PGRPs（Tanaka *et al*.，2008），果蝇中有 6 个长型 PGRPs 和 7 个短型 PGRPs（Werner *et al*.，2000），冈比亚按蚊有 4 个长型 PGRPs 和 3 个短型 PGRPs（Christophides *et al*.，2002）。PGRPs 还可以根据是否具有酰胺酶活性分为有酰胺酶活性和无酰胺酶活性两种类型（Christophides *et al*.，2002；Dziarski and Gupta，2006），具有酰胺酶酶活性的 PGRPs 可以打断细菌的肽聚糖中乙酰胞壁酸和丙氨酸之间的肽桥-酰胺键，将肽聚糖裂解成没有免疫活性的片段，从而下调 IMD 途径（Zaidman-Remy *et al*.，2006；Zaidman-Remy *et al*.，2011）。由于缺少酰胺酶活性所必需的位点而不具有酰胺酶活性的 PGRPs 不能裂解肽聚糖，但可作为受体参与其他免疫反应，例如果蝇 PGRP-SA 和 PGRP-SD 不具有酰胺酶活性，可作为受体激活 Toll 途径（Zaidman-Remy *et al*.，2006；Leone *et al*.，2008）。

3.2 PGRPs 的功能

3.2.1 识别受体（recognition receptor）功能：具有识别受体功能的 PGRPs 可以识别入侵的细菌和真菌。该类 PGRPs 可以将病原微生物的入侵信号传递给 Toll 和 IMD 等途径产生抗菌肽（Tzou *et al*.，2002；Dziarski，2003）。抗菌肽的合成在昆虫抵御入侵病原微生物的天生免疫系统途径中占据重要地位。除蚜虫外大多数昆虫可以在脂肪体、中肠以及表皮等免疫组织合成抗菌肽清除入侵病原微生物，抗菌肽的合成主要受 Toll 途径和 IMD 途径调控，革兰氏阳性菌和真菌可激活 Toll 途径，革兰氏阴性菌可激活 IMD 途径（Hoffmann and Reichhart，2002；Hoffmann，2003；Steiner *et al*.，2009）。在抗菌肽合成途径的上游，病原微生物的识别过程部分由行使受体功能的 PGRPs 完成（图 2）。果蝇中 PGRP 在血细胞、脂肪体、中肠和表皮等免疫相关组织中都有表达，并且短型的 PGRPs 在细菌感染后表达上调，而很多长型的 PGRP 则是组成型表达（Werner *et al*.，2000）。在果蝇中已经有 13 个 PGRPs 基因被鉴别出来，其中 PGRP-SA，SB1，SB2，SC1a，SC1b，SC2，SD，LB，LC，LE，LF 和 LA 的功能已经被证实，而 PGRP-LD 的功能尚不明确（Kang *et al*.，1998；Werner *et al*.，2000；Tanaka *et al*.，2008；Gendrin *et al*.，2013；Kurata，2014）。在果蝇的 13 个 PGRP 基因中，PGRP-SA 和 PGRP-SD 参与 Toll 途径，短型的 PGRP-SA 是果蝇中第一个被鉴定为游离于血淋巴中的受体型 PGRP（Michel *et al*.，2001；Kurata，2014），与革兰氏阳性菌肽聚糖结合后能够和 PGRP-SD 以及 GNBP1 共同作用于 Spatzle 前体激活酶，剪切后的 Spatzle 可激活 Toll 途径产生抗菌肽杀死细菌（Ligoxygakis *et al*.，2002；Weber *et al*.，2003；Jang *et al*.，2006；Ferrandon *et al*.，2007；Lemaitre and Hoffmann，2007）。另外，果蝇 PGRP-SA 和 SD 的突变体更易受到革兰氏阳性菌感染，野生型果蝇 PGRP-SA 和 SD 在革兰氏阳性菌的刺激下可协同作用激活 Toll 途径（Michel *et al*.，2001；Bischoff *et al*.，2004）。PGRP-LC 和 LE 能够结合 DAP 型的肽聚糖进而激活 IMD 途径，没有酰胺酶活性的果蝇 PGRP-LC 可以作为膜受体识别革兰氏阴性菌的 DAP 型肽聚糖（Ramet *et al*.，2002；Takehana *et al*，2002；Leulier *et al*，2003），之后与胞内侧果蝇 PGRP-LE 相互作用激活抗菌肽基因的转录（Pal and Wu，

2009）。受到金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 或者大肠杆菌 *Escherichia coli* 感染时，果蝇 PGRP-SC1a 能够作为识别受体将入侵信息传递给 Toll 途径合成抗菌肽（Garver *et al*., 2006）。

酚氧化酶级联反应可以调控昆虫和其他节肢动物血淋巴的黑化反应。一些 PGRPs 可以参与酚氧化酶级联反应的激活。在果蝇幼虫中过量表达的 PGRP-LE 和持续激活的 PGRP-LC 可以激活酚氧化酶级联反应（Takehana *et al*., 2002; Schmidt *et al*., 2008）。Serpin27A 是果蝇酚氧化酶原激活途径的抑制剂（De Gregorio *et al*, 2002; Ligoxygakis *et al*, 2002），PGRP-LE 介导的酚氧化酶级联反应可以被过表达的 Serpin27A 阻断，而在 Serpin27A 突变体中 PGRP-LE 介导酚氧化酶级联反应作用增强，进一步证明 PGRP-LE 介导酚氧化酶级联反应，并且处于 Serpin27A 上游（Takehana *et al*., 2004）。Park 等（2007）发现黄粉虫 *Tenebrio molitor* PGRP-SA 能够识别 Lys 型的肽聚糖并引发酚氧化酶级联反应产生黑化和 Toll 途径产生抗菌肽，并且他们发现 PGRP-SA 需要募集两分子的肽聚糖小片段才能激活酚氧化酶级联反应，黄粉虫 PGRP-SA 与肽聚糖结合后还能够与 GNBP1、丝氨酸蛋白酶 MSP 结合，剪切 Spz 激活酶，使 Spz 激活酶剪切 Spz 前体，从而激活 Toll 途径产生抗菌肽（Park *et al*., 2007; Kim *et al*., 2008）。鳞翅目昆虫中，烟草天蛾 *Manduca sexta* PGRP1 是酚氧化酶级联反应系统的成员，能够识别细菌肽聚糖触发烟草天蛾的免疫反应（Sumathipala and Jiang, 2010）。家蚕 PGRP-S1 和 PGRP-S5 可以结合肽聚糖，并且可以参与酚氧化酶级联反应（Yoshida *et al*., 1996; Chen *et al*., 2014）。

3.2.2 调节子（regulator）功能：PGRPs 的调控功能主要体现在对抗菌肽合成途径和吞噬作用等免疫反应的调控，以及对昆虫体内共生菌与病原菌之间平衡的调控（图 2）。革兰氏阴性菌被果蝇跨膜的 PGRP-LC 识别从而激活 IMD 途径（Gottar *et al*., 2002; Ramet *et al*., 2002; Choe *et al*., 2002, 2005; Leulier *et al*., 2003）。在 PGRP-LC 的 3 个亚型 PGRP-LCa，LCx 和 LCy 中，PGRP-LCa 与 PGRP-LCx 可以形成异质二聚体与 PGRP-LE 结合进而激活下游 IMD 途径（Kaneko *et al*., 2004）。从晶体结构上分析没有结合 PGN 的凹槽，序列分析发现不具有酰胺酶活性，但具有跨膜结构的 PGRP-LF 与 PGRP-LCa 和 PGRP-LCx PGRP 结构域序列极为相似，PGRP-LF 能够与 PGRP-LCa 竞争结合 PGRP-LCx，阻止 PGRP-LCa 与 PGRP-LCx 形成异质二聚体，从而下调 IMD 途径减弱抗菌肽的合成（Maillet *et al*., 2008）。PGRP-LF 的突变体在不感染的情况下，IMD 途径也能被持续地激活（Maillet *et al*., 2008）。另外，果蝇 PGRP-LF 突变体可引发 JNK 途径的异常激活导致发育不良（Maillet *et al*., 2008; Basbous *et al*., 2011）。具有酶活性的果蝇 PGRPs 可以降解肽聚糖，果蝇 PGRP-SC 和 PGRP-LB 可以裂解细菌肽聚糖形成不具有免疫刺激功能的片段，从而减弱抗菌肽的合成量，降低抗菌肽过量表达所造成的机体损伤（Royet and Dziarski, 2007; Lee and Ferrandon, 2011）。果蝇 PGRP-LA 与 PGRP-LF，PGRP-SC 和 PGRP-LB 的负调控不同，它主要在上皮细胞表达，在 PGRP-LA 的突变体中上皮细胞中抗菌肽的表达水平降低，而过量表达 PGRP-LA 可以激活 IMD 途径，说明 PGRP-LA 具有正调控 IMD 途径的作用（Gendrin *et al*., 2013）。

吞噬作用能够将周围环境中的固体颗粒例如细菌等通过小泡的形式吞食进入细胞内部。在免疫系统中，这一细胞机制可以清除病原体和细胞碎片等（Ramet *et al*., 2002）。PGRP-LC 参与果蝇对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 *S. aureus* 的细胞吞噬过程，但不能参与革兰氏阴性菌大肠杆菌 *E. coli* 的吞噬过程（Ramet *et al*., 2002; Charroux *et al*., 2009）；而在果蝇 PGRP-SC1 突变体中金黄色葡萄球菌的吞噬作用减弱，说明果蝇 PGRP-SC1 可能作为一种调控因子增强吞噬作用（Garver *et al*., 2006; Royet and Dziarski, 2007）。果蝇 PGRP-SC1a 的突变体中发现它能够和肽聚糖结合但是不能降解肽聚糖，影响对细菌的吞噬作用，但对 Toll 途径没有影响，说明其裂解肽聚糖的产物在吞噬过程中具有重要作用（Kaneko *et al*., 2004; Filipe *et al*., 2005; Garver *et al*., 2006）。PGRP-LE 是目前从果蝇发现的第一个胞内受体，它能够通过结合 DAP 型 PGN 识别细胞内的李斯特菌 *Listeria monocytogenes*，虽然果蝇的 IMD 途径合成的抗菌肽对进入胞内的李斯特菌不起作用，但 PGRP-LE 在识别胞内李斯特菌后会诱导细胞的自噬反应清除胞内细菌（Yano *et al*., 2008; Charroux *et al*., 2009）。在棘皮动物海星 *Asterias rubens* 中，PGRP-S2a 可以促进吞噬细胞对藤黄微球菌的吞噬（Coteur *et al*., 2007）。人类中发现一种新的 PGRP-SAP，能够诱导吞噬细胞对人类致病菌金黄色葡萄球菌进行吞噬（An *et al*., 2013）。

共生菌普遍存在于多细胞动物内（Hooper and

Gordon, 2001)。共生菌的存在影响着寄主的肠道免疫、发育和稳态等生理活动(Braendle *et al.*, 2003; Koropatnick *et al.*, 2004; Macdonald and Monteleone, 2005; Ryu *et al.*, 2008)。在果蝇肠道内具有酰胺酶活性的 PGRPs 主要是减弱针对共生菌的免疫反应(Paredes *et al.*, 2011)。正常饲养的果蝇和暴露于共生菌条件下饲养的果蝇肠道内免疫抑制蛋白 PGRP-SC 和 PGRP-LB 表达水平高于无菌条件下生长和 *Dredd* (果蝇 IMD 途径接头蛋白基因)突变的果蝇,但是 IMD 途径下游的抗菌肽基因表达显著降低,说明在非感染情况下共生菌可以长期地诱导果蝇 IMD 途径(Zaidman-Remy *et al.*, 2006; Ryu *et al.*, 2008)。没有外界感染的果蝇 PGRP-LB 突变体的肠道中发现抗菌肽基因 *Dpt* 高于野生型果蝇,进一步证实了 PGRP-LB 对共生菌引发的免疫反应的调控作用(Paredes *et al.*, 2011)。另外,共生菌对寄主寿命也有很大影响,维护天生免疫稳态可以使共生菌生长良好,延长寄主寿命(Biteau *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2014)。Guo 等(2014)在果蝇中发现转录因子 FoXo 减弱 PGRP-SC2 的表达之后,原本受到 PGRP-SC2 抑制的 IMD 途径可以合成抗菌肽,共生菌稳态被打破,寄主干细胞增殖亢奋,引起表皮发育不正常,果蝇寿命缩短。然而恢复 PGRP-SC2 表达之后这些情况消失,表明 PGRP-SC2 可以维持果蝇肠道稳态,进而限制共生菌稳态失衡并能延长寿命。以上研究表明 PGRPs 在共生菌与寄主免疫反应之间的平衡调控方面起着重要作用。

3.2.3 效应因子(effector)功能:PGRPs 的效应因子功能是指 PGRPs 直接作用并杀死入侵病原微生物。具有该功能的 PGRPs 主要包括具酰胺酶杀菌功能的 PGRPs 和具凝集功能的 PGRPs(图 2)。具有酰胺酶活性的 PGRPs 可以裂解肽聚糖,但不一定具有抗菌活性。果蝇 PGRP-SC1b 具有酰胺酶活性,它对肽聚糖的降解速率与鸡蛋清溶菌酶相当,但是 PGRP-SC1b 并没有任何抗菌活性(Mellroth *et al.*, 2003)。与之相比,果蝇 PGRP-SB1 具有杀菌功能,在锌离子存在的情况下 1.5 μg/mL PGRP-SB1 可以在 10 min 内杀死 50% 的巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium*,但对其他细菌没有抗菌活性(Mellroth and Steiner, 2006)。家蚕 PGRP-S5 具有酰胺酶活

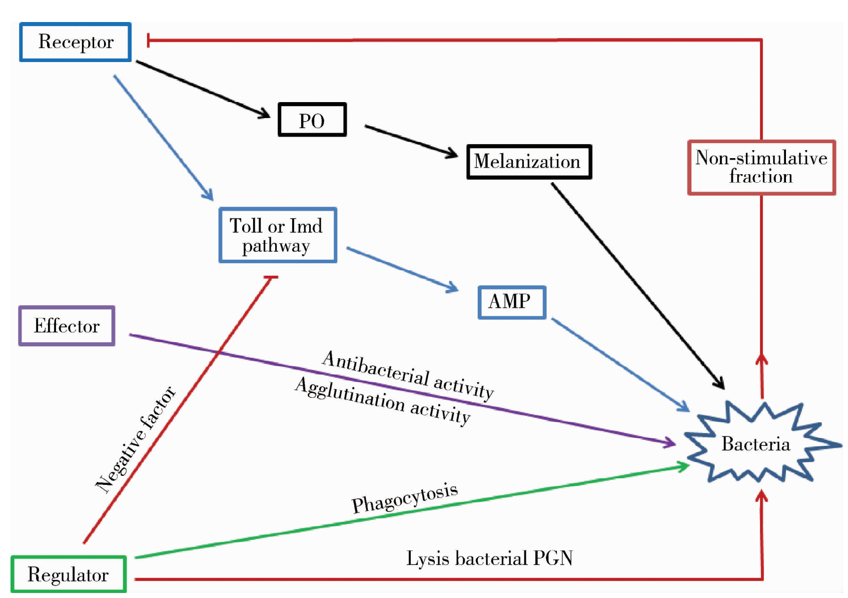


图 2 昆虫 PGRPs 功能示意图

Fig. 2 Diagram of PGRPs function in insect

PGRPs: 肽聚糖识别蛋白 Peptidoglycan recognition proteins; PPO: 酚氧化酶 Phenoloxidase; PGN: 肽聚糖 Peptidoglycan; AMP: 抗菌肽 Antimicrobial peptide. 识别受体(recognition receptor)功能:具有识别功能的 PGRPs 通过识别肽聚糖激活 PPO 途径产生黑化反应(melanization);或者识别肽聚糖后激活 Toll 和 IMD 途径合成抗菌肽(AMP)清除入侵细菌。调节子(regulator)作为负调控因子(negative factor)阻断 Toll 和 IMD 途径,关闭抗菌肽的合成,维持体内共生菌稳态;PGRPs 可以增强吞噬作用(phagocytosis);将细菌肽聚糖裂解成没有免疫刺激效应的片段,减弱抗菌肽过表达带来的免疫损伤。效应因子(effector)功能:PGRPs 直接作用于细菌杀死细菌(antibacterial activity)或者促使细菌发生凝集(agglutination)。As receptors, PGRPs recognize PGNs leading to the activation of PPO pathway which results in melanization; these recognition also activates Toll and IMD pathways for antimicrobial peptide synthesis. As regulators, PGRPs break down bacterial PGN to diminish or shut down Toll and IMD pathways to maintain homeostasis; some PGRPs may promote phagocytosis. As effectors, some PGRPs kill bacteria by themselves alone, while some PGRPs promote agglutination of bacteria.

性，同时也具有杀菌功能，PGRP-S5 对革兰氏阳性菌藤黄微球菌 *Micrococcus luteus* 和金黄色葡萄球菌 *S. aureus* 以及革兰氏阴性菌粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 和大肠杆菌 *E. coli* 具有杀菌功能，而且锌离子对 PGRP-S5 的抗菌活性有增强作用（Chen *et al.*，2014）。哺乳动物中的 PGRPs-PGLYRP1，PGLYRP3 和 PGLYRP4 没有酰胺酶活性，但具有杀菌功能（Mellroth and Steiner，2006）。

家蚕 PGRP-S5 可以使大肠杆菌和绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa* 凝集，但对藤黄微球菌、粘质沙雷氏菌 *S. marcescens* 和金黄色葡萄球菌的凝集作用并不明显（Chen *et al.*，2014）。在锌离子的参与下，棉铃虫 PGRP-B 和 PGRP-C 可以促使大肠杆菌和金黄色葡萄球菌发生凝集（Yang *et al.*，2013）。另外，双壳类软体动物太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* PGRP-S1S 也可以促使大肠杆菌发生凝集（Iizuka *et al.*，2014）。然而这些实验结果都是在体外进行的实验，体内的情况是否与体外实验一致需要进一步验证。

4 结语与展望

昆虫天生免疫与哺乳动物的天生免疫机制高度相似（Silverman and Maniatis，2001；Kim and Kim，2005），昆虫与哺乳动物的 PGRPs 具有进化上的高度保守性（Kang *et al.*，1998），模式昆虫 PGRPs 的研究工作可以为揭示更复杂的高等动物天生免疫提供线索。本文针对昆虫 PGRPs 作为识别受体、调节子和效应因子 3 个方面研究进展做了综述，但仍有一些问题值得深入研究。

4.1 PGRP 识别革兰氏阴性菌肽聚糖的机制

革兰氏阳性菌的肽聚糖直接暴露在细胞壁外层，PGRPs 可直接与它们相互作用，但革兰氏阴性菌的 PGRPs 则被细胞壁外层膜包被，PGRPs 如何能够接触、识别革兰氏阴性菌肽聚糖，有人假设是革兰氏阴性菌少量的肽聚糖发生了脱落，而 PGRPs 通过识别这些肽聚糖激活抗菌肽合成途径（Leulier *et al.*，2003）。Karlsson 等（2012）发现生长中的细菌脱落诱导果蝇体液免疫的物质，而这些诱导物主要是肽聚糖。另外一种猜想是革兰氏阴性菌被吞噬细胞吞噬的初始阶段，肽聚糖被暴露出来，然后被果蝇 PGRP-LC 或 PGRP-SC1a 识别，在哺乳动物中，吞噬体内部肽聚糖的识别优先于胞外肽聚糖的识别（Liu *et al.*，2001；Tydell *et al.*，2002；Dziarski，2003；Garver *et al.*，2006）。两种假说还需更多的研究。

4.2 PGRP 参与酚氧化酶途径和 ROS 的详细机制

PGRPs 在家蚕 *B. mori* 和烟草天蛾 *Manduca sexta* 中具有激活酚氧化酶级联反应的功能，在与肽聚糖共同存在时显著增强酚氧化酶级联反应（Yoshida *et al.*，1996；Sumathipala and Jiang，2010；Chen *et al.*，2014），现有的这些结果说明 PGRPs 能够参与到酚氧化酶级联反应中，但识别之后发生的事件并不清楚。活性氧（reactive oxygen species，ROS）是 O_2 在还原反应过程中形成的中间物，包括过超氧阴离子自由基（$O_2^{\overline{\cdot}}$）、过氧化氢（H_2O_2）以及羟基自由基（·OH），这些中间物 ROS 敏感的病原微生物具有毒性，在机体对于病原菌和寄生虫的防御反应中起到重要的作用（Mille and Britigan，1997；Nathan and Shioh，2000）。在海星 *Asterias rubens* 中发现，PGRP-S1a 可结合藤黄微球菌的肽聚糖，并抑制藤黄微球菌感染引发的吞噬细胞 ROS 的合成（Coteur *et al.*，2007）。但海星 PGRP-S1a 如何参与 ROS 途径，以及其他生物（包括昆虫）的 PGRPs 是否也参与 ROS 代谢调控需要更深入的研究。

4.3 PGRP 杀菌活性机制

哺乳动物的 PGLYRP1，PGLYRP3 和 PGLYRP4 没有酰胺酶活性，但可以在革兰氏阳性菌分裂时进入细菌细胞壁激活 CssR-CssS 双组分系统（检测和处理细菌胞内分泌到胞外的错误折叠蛋白），这种激活可以使胞内肽聚糖、蛋白、核酸、自由基的合成终止，引发细菌的死亡（Kashyap *et al.*，2011）。与之不同的是果蝇 PGRP-SB1 的杀菌功能是利用 DAP 型肽聚糖特异的酰胺酶活性杀死细菌（Mellroth and Steiner，2006）。其他昆虫 PGRPs 的杀菌机制是否与果蝇 PGRP-SB1 相似？这一问题还需要更多的实验数据才能回答。

参考文献（References）

Akira S，Uematsu S，Taekuchi O，2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*，124：783－801.

An JH，Kurokawa K，Jung DJ，Kim MJ，Kim CH，Fujimoto Y，Fukase K，Coggeshall KM，Lee BL，2013. Human SAP is a novel peptidoglycan recognition protein that induces complement-independent phagocytosis of *Staphylococcus aureus*. *J. Immunol.*，191：3319－3327.

Basbous N，Coste F，Leone P，Vincentelli R，Royet J，Kellenberger C，Roussel A，2011. The *Drosophila* peptidoglycan-recognition protein LF interacts with peptidoglycan-recognition protein LC to downregulate the IMD pathway. *EMBO Rep.*，12：327－333.

Beutler B，2004. Innate immunity：an overview. *Mol. Immunol.*，40：

845 – 859.

Bischoff V, Vignal C, Boneca IG, Michel T, Hoffmann JA, Royet J, 2004. Function of the *Drosophila* pattern-recognition receptor PGRP-SD in the detection of Gram-positive bacteria. *Nat. Immunol.*, 5: 1175 – 1180.

Biteau B, Karpac J, Supoyo S, Degennaro M, Lehmann R, Jasper H, 2010. Lifespan extension by preserving proliferative homeostasis in *Drosophila*. *PLoS Genet.*, 6: e1001159.

Braendle C, Miura T, Bickel R, Shingleton AW, Kambhampati S, Stern DL, 2003. Developmental origin and evolution of bacteriocytes in the aphid-*Buchnera* symbiosis. *PLoS Biol.*, 1: E21.

Charroux B, Rival T, Narbonne-Reveau K, Royet J, 2009. Bacterial detection by *Drosophila* peptidoglycan recognition proteins. *Microbes Infect.*, 11: 631 – 636.

Chen KK, Liu C, He Y, Jiang HB, Lu ZQ, 2014. A short-type peptidoglycan recognition protein from the silkworm: expression, characterization and involvement in the prophenoloxidase activation pathway. *Dev. Comp. Immunol.*, 45: 1 – 9.

Cheng X, Zhang X, Pflugrath JW, Studier FW, 1994. The structure of bacteriophage T7 lysozyme, a zinc amidase and an inhibitor of T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 4034 – 4038.

Choe KM, Lee H, Anderson KV, 2005. *Drosophila* peptidoglycan recognition protein LC (PGRP-LC) acts as a signal-transducing innate immune receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102: 1122 – 1126.

Choe KM, Werner T, Stöven S, Hultmark D, Anderson KV, 2002. Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in Relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila*. *Science*, 296: 359 – 362.

Christophides GK, Zdobnov E, Barillas-Mury C, Birney E, Blandin S, Blass C, Brey PT, Collins FH, Danielli A, Dimopoulos G, Hetru C, Hoa NT, Hoffmann JA, Kanzok SM, Letunic I, Levashina EA, Loukeris TG, Lycett G, Meister S, Michel K, Moita LF, Müller HM, Osta MA, Paskewitz SM, Reichhart JM, Rzhetsky A, Troxler L, Vernick KD, Vlachou D, Volz J, von Mering C, Xu J, Zheng L, Bork P, Kafatos FC, 2002. Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae*. *Science*, 298: 159 – 165.

Coteur G, Mellroth P, De Lefortery C, Gillan D, Dubois P, Communi D, Steiner H, 2007. Peptidoglycan recognition proteins with amidase activity in early deuterostomes (Echinodermata). *Dev. Comp. Immunol.*, 31: 790 – 804.

De Gregorio E, Han SJ, Lee WJ, Baek MJ, Osaki T, Kawabata SI, Lee BL, Iwanaga S, Lemaitre B, Brey PT, 2002. An immune-responsive Serpin regulates the melanization cascade in *Drosophila*. *Dev. Cell*, 3: 581 – 592.

Dziarski R, 2003. Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system. *Cell Mol. Life Sci.*, 60: 1793 – 1804.

Dziarski R, Gupta D, 2006. The peptidoglycan recognition proteins (PGRPs). *Genome Biol.*, 7: 232.

Dziarski R, Platt KA, Gelius E, Steiner H, Gupta D, 2003. Defect in neutrophil killing and increased susceptibility to infection with nonpathogenic gram-positive bacteria in peptidoglycan recognition protein-S (PGRP-S)-deficient mice. *Blood*, 102: 689 – 697.

Fabrick JA, Baker JE, Kanost MR, 2003. cDNA cloning, purification, properties, and function of a beta-1,3-glucan recognition protein from a pyralid moth, *Plodia interpunctella*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 579 – 594.

Ferrandon D, Imler JL, Hetru C, Hoffmann JA, 2007. The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.*, 7: 862 – 874.

Filipe SR, Tomasz A, Ligoxygakis P, 2005. Requirements of peptidoglycan structure that allow detection by the *Drosophila* Toll pathway. *EMBO Rep.*, 6: 327 – 333.

Garver LS, Wu JL, Wu LP, 2006. The peptidoglycan recognition protein PGRP-SC1a is essential for Toll signaling and phagocytosis of *Staphylococcus aureus* in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 660 – 665.

Gendrin M, Zaidman-Rémy A, Broderick NA, Paredes J, Paredes J, Poidevin M, Roussel A, Lemaitre B, 2013. Functional analysis of PGRP-LA in *Drosophila* immunity. *PLoS ONE*, 8: e69742.

Gerardo NM, Altincicek B, Anselme C, Atamian H, Barribeau SM, de Vos M, Duncan EJ, Evans JD, Gabaldon T, Ghanim M, Heddi A, Kaloshian I, Latorre A, Moya A, Nakabachi A, Parker BJ, Perez-Brocal V, Pignatelli M, Rahbe Y, Ramsey JS, Spragg CJ, Tamames J, Tamarit D, Tamborindeguy, C, Vincent-Monegat C, Vilcinskas A, 2010. Immunity and other defenses in pea aphids, *Acyrthosiphon pisum*. *Genome Biol.*, 11: R21.

Glodsmith MR, Marec F, 2009. Molecular Biology and Genetics of Lepidoptera. CRC Press, Boca Raton. 271 – 291.

Gottar M, Gobert V, Michel T, Belvin M, Duyk G, Hoffmann JA, Ferrandon D, Royet J, 2002. The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein. *Nature*, 416: 640 – 644.

Guan R, Mariuzza RA, 2007. Peptidoglycan recognition proteins of the innate immune system. *Trends Microbiol.*, 15: 127 – 134.

Guan R, Roychowdury A, Ember B, Kumar S, Boons GJ, Mariuzza RA, 2005. Crystal structure of a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in complex with a muramyl tripeptide from Gram-positive bacteria. *J. Endotoxin Res.*, 11: 41 – 46.

Guo L, Karpac J, Tran SL, Jasper H, 2014. PGRP-SC2 promotes gut immune homeostasis to limit commensal dysbiosis and extend lifespan. *Cell*, 156: 109 – 122.

Hoffmann JA, 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 426: 33 – 38.

Hoffmann JA, Reichhart JM, 2002. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nat. Immunol.*, 3: 121 – 126.

Hooper LV, Gordon JI, 2001. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 292: 1115 – 1118.

Hultmark D, 2003. *Drosophila* immunity: paths and patterns. *Curr. Opin. Immunol.*, 15: 12 – 19.

Iizuka M, Nagasaki T, Takahashi KG, Osada M, Itoh N, 2014. Involvement of Pacific oyster CgPGRP-S1S in bacterial recognition, agglutination and granulocyte degranulation. *Dev. Comp. Immunol.*, 43: 30 – 34.

Janeway CAJ, Medzhitov JR, 2002. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.*, 20: 197 – 216.

Jang IH, Chosa N, Kim SH, Nam HJ, Lemaitre B, Ochiai M, Kambris Z, Brun S, Hashimoto C, Ashida M, Brey PT, Lee WJ, 2006. A Spatzle-processing enzyme required for toll signaling activation in *Drosophila* innate immunity. *Dev. Cell*, 10: 45 – 55.

Kaneko T, Goldman WE, Mellroth P, Steiner H, Fukase K, Kusumoto S, Harley W, Fox A, Golenbock D, Silverman N, 2004. Monomeric and polymeric gram-negative peptidoglycan but not purified LPS stimulate the *Drosophila* IMD pathway. *Immunity*, 20: 637 – 649.

Kaneko T, Yano T, Aggarwal K, Lim JH, Ueda K, Oshima Y, Peach C, Erturk-Hasdemir D, Goldman WE, Oh BH, Kurata S, Silverman N, 2006. PGRP-LC and PGRP-LE have essential yet distinct functions in the *Drosophila* immune response to monomeric DAP-type peptidoglycan. *Nat. Immunol.*, 7: 715 – 723.

Kang D, Liu G, Lundstrom A, Gelius E, Steiner H, 1998. A peptidoglycan recognition protein in innate immunity conserved from insects to humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 10078 – 10082.

Karlsson J, Oldenvi S, Fahlander C, Daenthanasanmak A, Steiner H, 2012. Growing bacteria shed elicitors of *Drosophila* humoral immunity. *J. Innate Immun.*, 4: 111 – 116.

Kashyap DR, Wang M, Liu LH, Boons GJ, Gupta D, Dziarski R, 2011. Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by activating protein-sensing two-component systems. *Nat. Med.*, 17: 676 – 683.

Kim CH, Kim SJ, Kan H, Kwon HM, Roh KB, Jiang R, Yu Y, Park JW, Lee HH, Ha NC, Kang HJ, Nonaka M, Soderhall K, Lee BL, 2008. A three-step proteolytic cascade mediates the activation of the peptidoglycan-induced toll pathway in an insect. *J. Biol. Chem.*, 283: 7599 – 7607.

Kim MS, Byun M, Oh BH, 2003. Crystal structure of peptidoglycan recognition protein LB from *Drosophila melanogaster*. *Nat. Immunol.*, 4: 787 – 793.

Kim T, Kim YJ, 2005. Overview of innate immunity in *Drosophila*. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 38: 121 – 127.

Koropatnick TA, Engle JT, Apicella MA, Stabb EV, Goldman WE, McFall-Ngai MJ, 2004. Microbial factor-mediated development in a host-bacterial mutualism. *Science*, 306: 1186 – 1188.

Kurata S, 2014. Peptidoglycan recognition proteins in *Drosophila* immunity. *Dev. Comp. Immunol.*, 42: 36 – 41.

Lee KZ, Ferrandon D, 2011. Negative regulation of immune responses on the fly. *EMBO J.*, 30: 988 – 990.

Lemaitre B, Hoffmann J, 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, 25: 697 – 743.

Lemaitre B, Reichhart JM, Hoffmann JA, 1997. *Drosophila* host defense: differential induction of antimicrobial peptide genes after infection by various classes of microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 14614 – 14619.

Leone P, Bischoff V, Kellenberger C, Hetru C, Royet J, Roussel A, 2008. Crystal structure of *Drosophila* PGRP-SD suggests binding to DAP-type but not lysine-type peptidoglycan. *Mol. Immunol.*, 45: 2521 – 2530.

Leulier F, Parquet C, Pili-Floury S, Ryu JH, Caroff M, Lee WJ, Mengin-Lecreulx D, Lemaitre B, 2003. The *Drosophila* immune system detects bacteria through specific peptidoglycan recognition. *Nat. Immunol.*, 4: 478 – 484.

Ligoxygakis P, Pelte N, Hoffmann JA, Reichhart JM, 2002. Activation of *Drosophila* Toll during fungal infection by a blood serine protease. *Science*, 297: 114 – 116.

Liu C, Xu Z, Gupta D, Dziarski R, 2001. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. *J. Biol. Chem.*, 276: 34686 – 34694.

Macdonald TT, Monteleone G, 2005. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science*, 307: 1920 – 1925.

Maillet F, Bischoff V, Vignal C, Hoffmann J, Royet J, 2008. The *Drosophila* peptidoglycan recognition protein PGRP-LF blocks PGRP-LC and IMD/JNK pathway activation. *Cell Host Microbe*, 3: 293 – 303.

Mayhew PJ, 2007. Why are there so many insect species? Perspectives from fossils and phylogenies. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 82: 425 – 454.

McTaggert SJ, Conlon C, Colbourne JK, Blaxter ML, Little TJ, 2009. The components of the *Daphnia puleximmune* system as revealed by complete genome sequencing. *BMC Genomics*, 10: 175.

Medzhitov R, Janeway CA, 1998. An ancient system of host defense. *Curr. Opin. Immunol.*, 10: 12 – 15.

Mellroth P, Karlsson J, Steiner H, 2003. A scavenger function for a *Drosophila* peptidoglycan recognition protein. *J. Biol. Chem.*, 278: 7059 – 7064.

Mellroth P, Steiner H, 2006. PGRP-SB1: an N-acetylmuramoyl L-alanine amidase with antibacterial activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 350: 994 – 999.

Meylan E, Burns K, Hofmann K, Blancheteau V, Martinon F, Kelliher M, Tschopp J, 2004. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat. Immunol.*, 5: 503 – 507.

Michel T, Reichhart JM, Hoffmann JA, Royet J, 2001. *Drosophila* Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein. *Nature*, 414: 756 – 759.

Miller RA, Britigan BE, 1997. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clin. Microbiol. Rev.*, 10: 1 – 18.

Nathan C, Shiloh MU, 2000. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 8841 – 8848.

Ochiai M, Ashida M, 1999. A pattern recognition protein for peptidoglycan. Cloning the cDNA and the gene of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, 274: 11854 – 11858.

Pal S, Wu LP, 2009. Pattern recognition receptors in the fly: lessons we can learn from the *Drosophila melanogaster* immune system. *Fly*, 3: 121 – 129.

Paredes JC, Welchman DP, Poidevin M, Lemaitre B, 2011. Negative regulation by amidase PGRPs shapes the *Drosophila* antibacterial response and protects the fly from innocuous infection. *Immunity*,

35: 770 – 779.

Park JW, Kim CH, Kim JH, Je BR, Roh KB, Kim SJ, Lee HH, Ryu JH, Lim JH, Oh BH, Lee WJ, Ha NC, Lee BL, 2007. Clustering of peptidoglycan recognition protein-SA is required for sensing lysine-type peptidoglycan in insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 6602 – 6607.

Rämet M, Manfruelli P, Pearson A, Mathey-Prevot B, Ezekowitz RA, 2002. Functional genomic analysis of phagocytosis and identification of a *Drosophila* receptor for *E. coli*. *Nature*, 416: 644 – 648.

Royet J, Dziarski R, 2007. Peptidoglycan recognition proteins: pleiotropic sensors and effectors of antimicrobial defences. *Nat. Rev. Microbiol.*, 5: 264 – 277.

Royet J, Gupta D, Dziarski R, 2011. Peptidoglycan recognition proteins: modulators of the microbiome and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 11: 837 – 851.

Ryu JH, Kim SH, Lee HY, Bai JY, Nam YD, Bae JW, Lee DG, Shin SC, Ha EM, Lee WJ, 2008. Innate immune homeostasis by the homeobox gene caudal and commensal-gut mutualism in *Drosophila*. *Science*, 319: 777 – 782.

Schleifer KH, Kandler O, 1972. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriol. Rev.*, 36: 407 – 477.

Schmidt RL, Trejo TR, Plummer TB, Platt JL, Tang AH, 2008. Infection induced proteolysis of PGRP-LC controls the IMD activation and melanization cascades in *Drosophila*. *FASEB*, 22: 918 – 929.

Silverman N, Maniatis T, 2001. NF-kappaB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev.*, 15: 2321 – 2342.

Steiner H, Hultmark D, Engström A, Bennich H, Boman HG, 2009. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature*, 292: 246 – 248.

Stenbak CR, Ryu JH, Leulier F, Pili-Floury S, Parquet C, Herve M, Chaput C, Boneca IG, Lee WJ, Lemaitre B, Mengin-Lecreulx D, 2004. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by the *Drosophila* immune deficiency pathway. *J. Immunol.*, 173: 7339 – 73348.

Sumathipala N, Jiang H, 2010. Involvement of *Manduca sexta* peptidoglycan recognition protein-1 in the recognition of bacteria and activation of prophenoloxidase system. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 40: 487 – 495.

Sun X, Yin J, Starovasnik MA, Fairbrother WJ, Dixit VM, 2002. Identification of a novel homotypic interaction motif required for the phosphorylation of receptor-interacting protein (RIP) by RIP3. *J. Biol. Chem.*, 11: 9505 – 9511.

Takehana A, Katsuyama T, Yano T, Oshima Y, Takada H, Aigaki T, Kurata S, 2002. Overexpression of a pattern-recognition receptor, peptidoglycan-recognition protein-LE, activates IMD/relish-mediated antibacterial defense and the prophenoloxidase cascade in *Drosophila* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 13705 – 13710.

Takehana A, Yano T, Mita S, Kotani A, Oshima Y, Kurata S, 2004. Peptidoglycan recognition protein (PGRP)-LE and PGRP-LC act synergistically in *Drosophila* immunity. *EMBO J.*, 23: 4690 – 4700.

Tanaka H, Ishibashi J, Fujita K, Nakajima Y, Sagisaka A, Tomimoto K, Suzuki N, Yoshiyama M, Kaneko Y, Iwasaki T, Sunagawa T, Yamaji K, Asaoka A, Mita K, Yamakawa M, 2008. A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38: 1087 – 1110.

Tydell CC, Yount N, Tran D, Yuan J, Selsted ME, 2002. Isolation, characterization, and antimicrobial properties of bovine oligosaccharide-binding protein. A microbicidal granule protein of eosinophils and neutrophils. *J. Biol. Chem.*, 277: 19658 – 19664.

Tzou P, De Gregorio E, Lemaitre B, 2002. How *Drosophila* combats microbial infection: a model to study innate immunity and host-pathogen interactions. *Curr. Opin. Microbiol.*, 5: 102 – 110.

Weber AN, Tauszig-Delamasure S, Hoffmann JA, Lelièvre E, Gascan H, Ray KP, Morse MA, Imler JL, Gay NJ, 2003. Binding of the *Drosophila* cytokine Spatzle to Toll is direct and establishes signaling. *Nat. Immunol.*, 4: 794 – 800.

Werner T, Borge-Renberg K, Mellroth P, Steiner H, Hultmark D, 2003. Functional diversity of the *Drosophila* PGRP-LC gene cluster in the response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *J. Biol. Chem.*, 278: 26319 – 26322.

Werner T, Liu G, Kang D, Ekengren S, Steiner H, Hultmark D, 2000. A family of peptidoglycan recognition proteins in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 13772 – 13777.

Yang DQ, Su ZL, Qiao C, Zhang Z, Wang JL, Li F, Liu XS, 2013. Identification and characterization of two peptidoglycan recognition proteins with zinc-dependent antibacterial activity from the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Dev. Comp. Immunol.*, 39: 343 – 351.

Yano T, Mita S, Ohmori H, Oshima Y, Fujimoto Y, Ueda R, Takada H, Goldman WE, Fukase K, Silverman N, Yoshimori T, Kurata S, 2008. Autophagic control of *Listeria* through intracellular innate immune recognition in drosophila. *Nat. Immunol.*, 9: 908 – 916.

Yoshida H, Kinoshita K, Ashida M, 1996. Purification of a peptidoglycan recognition protein from hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, 271: 13854 – 13860.

Yu XQ, Zhu YF, Ma C, Fabrick JA, Kanost MR, 2002. Pattern recognition proteins in *Manduca sexta* plasma. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 1287 – 1293.

Zaidman-Remy A, Herve M, Poidevin M, Pili-Floury S, Kim MS, Blanot D, Oh BH, Ueda R, Mengin-Lecreulx D, Lemaitre B, 2006. The *Drosophila* amidase PGRP-LB modulates the immune response to bacterial infection. *Immunity*, 24: 463 – 473.

Zaidman-Remy A, Poidevin M, Herve M, Welchman DP, Paredes JC, Fahlander C, Steiner H, Mengin-Lecreulx D, Lemaitre B, 2011. *Drosophila* immunity: analysis of PGRP-SB1 expression, enzymatic activity and function. *PLoS ONE*, 6: e17231.

（责任编辑：赵利辉）